

Die Glykoside von Nerium odorum Sol.

Verkürzte Fassung der
Inauguraldissertation
zur
Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
SRINIVASA RANGASWAMI
aus Indien

CITY-DRUCK AG., ZÜRICH

1949

Die Glykoside von *Nerium odorum* Sol.

Verkürzte Fassung der

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

SRINIVASA RANGASWAMI

aus Indien

CITY-DRUCK AG., ZÜRICH

1949

Genehmigt von der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

auf Antrag der Herren Professoren
Dr. T. REICHSTEIN und Dr. K. LEUPIN

Basel, den 23. November 1948

Der Dekan:
Prof. Dr. M. FIERZ

Herrn Srinivasa Rangaswami wurde von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 23. November 1948 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 23. November 1948 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

Die Glykoside von Nerium odorum Sol.

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. in der Pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek, Bern.

Separatabdruck aus
«Pharmaceutica Acta Helvetiae» 24, 159-183 (1949)



Die Glykoside von *Nerium odorum* Sol.

Der wohlriechende, rot oder weiß blühende Oleander, *Nerium odorum* Sol., ist eine in Indien und China wild wachsende und dort teilweise auch als Zierpflanze³ kultivierte Apocynacea. Die Pflanze ist giftig und Teile derselben, wie Blätter, Wurzeln oder Rinde werden nicht selten für verbrecherische Zwecke benützt. Die Wurzel stand in Indien auch schon lange in medizinischem Gebrauch, aber meistens für äußerliche Anwendung; Angaben darüber finden sich in der Pharmacographia Indica⁴ sowie in *Nadkarni* «Indian Materia Medica»⁵ und bei *Pendse* und *Dutt*¹¹. Danach wird eine Abkochung der Wurzel bei verschiedenen Fiebern verwendet, ein mit Wasser angeteigtes Wurzelpulver als Umschläge bei Geschwüren, Furunkulose und Lepra. Die Rinde soll auch als stark insektenabstoßendes Mittel (repellant) wirken. Es ist außerdem schon lange bekannt, daß die Pflanze stark herzwirksame Stoffe enthält und es ist daher auch vorgeschlagen worden, sie als Herzmittel zu verwenden. Geeignete Extrakte dürften möglicherweise für die genannten Länder als Ersatz von Digitalis- oder Strophanthus-Präparaten von praktischem Wert sein.

Aus Rinde und Samen isolierte *Greenish*⁶ zwei toxische amorphe «saponinartige Glykoside» und nannte sie *Neriodorin* (wasserunlöslich) und *Neriodorein* (wasserlöslich).

³ Die Blüten werden von den Hindus bei gewissen religiösen Gebräuchen verwendet.

⁴ *W. Dymock, C. J. H. Warden, D. Hooper*, Pharmacographia Indica, Vol. II. p. 398-406 (London, Bombay, Calcutta, 1890-93). Hier sind auch viele Vergiftungssymptome beschrieben.

⁵ *Nadkarni*, Indian Materia Medica p. 593 (1927). Das Original war uns nicht zugänglich.

⁶ *H. Greenish*, Pharm. Journ. [3] 11, 873 (1880-81); Chem. Zentralblatt 12, 218 (1881).

Später⁷ beschrieb er auch Kristalle, leider ohne Angabe physikalischer Daten. Nach *Schmiedeberg*⁸ schien es nicht ausgeschlossen, daß Neriodorin und Neriodorein mit Nerium und Oleandrin aus Nerium oleander L.⁹ identisch sind. *Bose*¹⁰ isolierte aus Wurzeln noch einen dritten, ebenfalls amorphen Stoff *Karabin* ($C_{21}H_{40}O_6$). Seiner Ansicht nach ist Neriodorein ein Saponin, Neriodorin und Karabin wären jedoch harzartiger Natur und keine Glykoside. Die Rinde wurde weiter von *Pendse* und *Dutt*¹¹ untersucht. Außer Wachsen, Gerbstoffen und Farbstoffen fanden sie Neriodorin (Smp. 86–87°) und Neriodorein (Smp. 106–107°), beides amorphe Pulver, denen sie die Formeln $C_{22}H_{32}O_7$ und $C_{23}H_{34}O_{11}$ zuschrieben. Es soll sich um Stoffe glykosidischer Natur gehandelt haben, denn die saure Hydrolyse gab Zucker und die entsprechenden amorphen Aglykone vom Smp. 68° und 70°. Soweit wir es beurteilen können, hat es sich bei den als Neriodorin, Neriodorein und Karabin bezeichneten Präparaten durchweg um amorphe Gemische gehandelt. Dieser Ansicht ist auch *Naidu*¹². Er glaubt darüber hinaus, daß alle drei Präparate nur einen giftigen Stoff in verschiedenem Reinheitsgrad enthalten haben, den er aus frischen Blättern in 0,09proz. Ausbeute in farblosen Kristallen isolierte und den er *Nerin* nannte. Dieses *Nerin* schmolz bei 123°, gab mit konz. H_2SO_4 sofort eine purpurrote Färbung, die sich beim Stehen noch vertiefte, zeigte eine positive *Keller-Kiliani*-Reaktion und soll die Formel $C_{35}H_{50}O_{10}$ besitzen. Es war stark toxisch für Frösche und Hunde. Ferner ließ es sich mit Emulsin sowie mit HCl hydrolysieren, wobei ein Mol Zucker, wahrscheinlich eine Hexose abgespalten wurde.

Ferner berichtet *Nimoto*¹³ in 4 Arbeiten über die pharmakologische Wirkung von «*Odorin*», ein aus Blättern und Rinde von Nerium odorum gewonnenes Glykosid mit digitalisartiger Wirkung. Leider waren uns die Originalarbeiten nicht zugänglich und aus den Zentralblattnotizen ist nicht ersichtlich, ob es sich um einen kristallisierten Stoff gehandelt hat, was für Eigenschaften er hatte und wie er gewonnen worden war.

Durch das Entgegenkommen der Andhra-Universität kamen wir in den Besitz einer größeren Menge Stamm- und Zweig- sowie Wurzelrinde der genannten Pflanze, die in der Gegend von Travancore (Indien) im Dezember 1946 gesammelt worden waren¹⁴. In dieser Arbeit wird die Untersuchung der Stamm- und Zweigrinde beschrieben, und zwar wurde hauptsächlich auf die Anwesenheit von herzaktiven Glykosiden geprüft. Zu diesem Zweck wurde die feingepulverte Rinde zunächst erschöpfend mit Äther perkoliert. Dabei wurden besonders Fette, Harze, Wachse und etwas Farbstoffe extrahiert, doch enthielten diese Anteile bereits merkliche Mengen von Glykosiden, die sich daraus wie unten beschrieben isolieren ließen. Das mit Äther extrahierte Rindenpulver wurde nun mehrmals mit heißem Methanol extrahiert, bis es keine bitter schmeckenden Stoffe mehr abgab und dann verworfen. Aus den dunkelbraunen Metha-

⁷ H. Greenish, Pharmac. Journ. [3] 14, 289 (1883–84).

⁸ O. Schmiedeberg, Arch. exp. Pathol. und Pharmacol. 16, 149 (1883); Ber. deutsch. chem. Ges. 16, 253 (1883).

⁹ Dies ist der rosa oder weiß blühende Oleander der Mittelmeerländer. Nerium odorum Sol. und Nerium oleander L. wurden von einigen Autoren früher nur als Varietäten derselben Art angesehen, doch sind sie heute als selbständige Arten anerkannt.

¹⁰ R. C. L. Bose, Proc. Chem. Soc. 17, 92 (1901); Chem. Zentralblatt 1901, I 1201.

¹¹ G. P. Pendse, S. Dutt, Bull. of the Academy of Sciences, U. P. Allahabad, 3, 209–14 (1934).

¹² S. R. Naidu, Annual report of the Chemical Examiner to the Government of Madras, 1937; Analyst 64, 121 (1939).

¹³ J. Nimoto, Okayama-Igakkai-Zasshi (Mitt. med. Ges. Okayama) 50, 2426 (1938); 51, 1549, 1884, 2231 (1939); Chem. Zentralblatt 1939, II. 461; 1941, II. 919; 1940, II. 1615; 1941, I. 79.

¹⁴ Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. T. R. Seshadri, sowie den Behörden der Andhra-Universität, Waltair, Süd-Indien, für die freundliche Beschaffung dieses Materials bestens danken.

nollösungen wurden in üblicher Weise durch Schütteln mit Bleihydroxyd die damit fällbaren Verunreinigungen (bes. Gerbstoffe, Säuren und ein Teil der Farbstoffe) entfernt. Die braungelbe Methanollösung wurde hierauf bei schwach lakmussaurem Reaktion im Vakuum eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und zunächst mehrmals mit Chloroform, dann wiederholt mit Chloroform-Alkohol-Gemischen (9 : 1 und 2 : 1) ausgeschüttelt, worauf die verbleibende wäßrige Phase nicht mehr bitter war, wenn das Ausschütteln genügend oft durchgeführt wurde. Zur Kontrolle wurde sie im Vakuum eingedampft, der Rückstand aus wenig Methanol mit viel Äthanol gefällt und die klare Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand gewogen. Die mit Sodalösung gewaschenen, aber noch stark gelb bis braun gefärbten Chloroform- und Chloroform-Alkohol-Extrakte hinterließen beim Eindampfen die rohen Glykosidgemische. Zwei Ansätze mit derselben Rindenprobe gaben die folgenden Ausbeuten¹⁵:

	Chloroform- Extrakt	Chloroform- Alkohol- (9 : 1)- Extrakt	Chloroform- Alkohol- (2 : 1)- Extrakt	Wasserphase nach Reinigung mit Alkohol
Ansatz I 0,8 kg Rinde	6,8 g	4,2 g	17,2 g	47 g (noch bitter)
Ansatz II 1 kg Rinde	14 g	15,9 g	37,6 g	31,7 g (nicht mehr bitter)

Aus der Wasserphase von Ansatz I konnten nach Aufnehmen in wenig Wasser und öfterem Ausschütteln mit Chloroform-Alkohol (2 : 1) noch 9,1 g extrahiert werden.

Ferner wurde der Ätherextrakt aus beiden Ansätzen (zusammen 145,7 g aus 2,0 kg Rinde) zwischen Petroläther und 50proz. Äthanol verteilt, wobei die bitter schmeckenden Anteile in die wäßrig-alkoholische Schicht übergingen. Diese wurde nach Entfernung des Methanols im Vakuum der Reihe nach mit viel Äther, Chloroform sowie Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Die mit Soda gewaschenen Auszüge lieferten noch die folgenden Ausbeuten:

5 g Ätherlösliches
1,9 g Chloroform-Lösliches
0,85 g Chloroform-Alkohol-(2 : 1)-Lösliches

Aus den verschiedenen so erhaltenen, gelben bis braungelben sehr stark bitter schmeckenden rohen Extrakten ließen sich nach chromatographischer Trennung an Al_2O_3 sieben farblose, zur Hauptsache wahrscheinlich einheitliche kristallisierte Stoffe (Substanzen 1–7) isolieren¹⁶.

¹⁵ Im zweiten Ansatz wurde mit jedem Lösungsmittel öfter ausgeschüttelt, wodurch die Ausbeuten höher sind, dafür blieb weniger Material in der Wasserphase.

¹⁶ Bei den Substanzen 4 (Odorosid C) und 5 (Odorosid D) konnte nicht ganz sicher bewiesen werden, daß es sich tatsächlich um zwei verschiedene Stoffe handelt, da von Nr. 4 bisher nicht genügend Material vorhanden war. Substanz 6 (Odorosid E) konnte bisher wahrscheinlich nicht völlig rein erhalten werden.

Eine Reihe der relativ schwer eluierbaren Fraktionen, die Glykoside mit mehr als einem Zuckerrest enthielten, ließen sich nicht direkt kristallisieren, aber nach Azetylierung konnten leicht Kristalle erhalten werden. Vorsichtige Verseifung gab eine achte kristallisierte Substanz. Außer den genannten 8 Stoffen wurden in kleiner Menge noch weitere Kristallfraktionen erhalten, deren Einheitlichkeit aber nicht sicher ist. Zur Charakterisierung und zur Prüfung auf Einheitlichkeit wurden Proben der 7 nicht über das Azetat isolierten Substanzen auch noch azetyliert, außer Nr. 4, von der zu wenig Material vorlag. Alle so erhaltenen Azetate kristallisierten und verhielten sich wie einheitliche Stoffe bis auf das Azetat der schwer zu reinigenden Substanz 6, die wahrscheinlich noch eine kleine Menge eines Isomeren beigemischt enthielt. Besonderes Interesse bot natürlich die Frage nach der biologischen Wirksamkeit. Die 8 Substanzen wurden daher teilweise am isolierten Froschherz¹⁷ und soweit möglich auch an der Katze¹⁸ orientierend geprüft (siehe letzte Kolonne Tabelle II sowie Tabelle I). Dabei zeigte Substanz 1 am Froschherz in den geprüften Konzentrationen keine Herzwirksamkeit, die anderen 7 Substanzen besaßen eindeutige digitalisartige Wirkung. Die Werte des geometrischen Mittels der tödlichen Dosis für die Katze sind in Tabelle I zusammengestellt; als Vergleich werden die entsprechenden Zahlen für Digitoxin, Uzarin und Somalin angegeben, die mit einigen unserer Substanzen chemisch nahe verwandt sind.

Tabelle I

Toxizität der Odoroside für die Katze

Substanz	Anzahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg
Odorosid A (Subst. 2)	10	0,1859
Odorosid B (Subst. 3)	2	2,016 und 1,301
Odorosid C (Subst. 4)	4	0,7674
Odorosid D (Subst. 5)	2	1,1412 und 1,4996
Odorosid E (Subst. 6)	10	0,4173 $\pm$ 0,0449
Odorosid F (Subst. 7)	1	1,93
Odorosid G (Subst. 8)	10	0,6222 $\pm$ 0,0334
Digitoxin		0,3253 $\pm$ 0,0115 ^{19, 20}
Uzarin		4,586 $\pm$ 0,737 ^{19, 20}
Somalin ²¹		0,47 ²²

¹⁷ Wir danken Herrn Prof. Dr. R. Meier, Basel, für die Resultate dieser Bestimmungen, die in den Laboratorien der Ciba AG, Basel ausgeführt wurden. Die Zahlen geben die schwächste Konzentration an, die am isolierten Froschherz zu systolischem Stillstand führte, und besitzen nur orientierenden Charakter.

¹⁸ Wir danken Herrn Dr. K. K. Chen, Indianapolis, für die Ausführung dieser Messungen, über die er selbst an anderer Stelle berichten wird. Die Zahlen geben das geometrische Mittel der letalen Dosis in mg/kg an.

¹⁹ K. K. Chen, A. L. Chen, R. C. Anderson, J. Am. Pharm. Assoc. 25, 579 (1936).

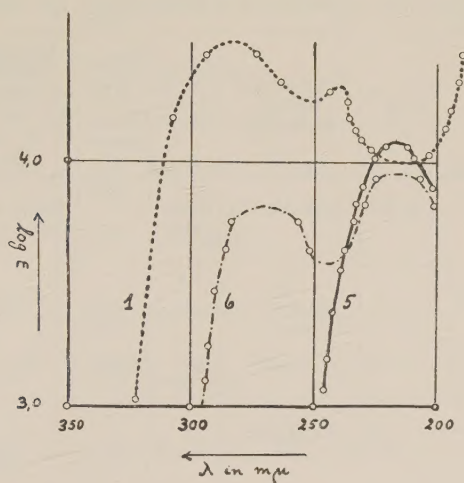
²⁰ K. K. Chen, Ann. Rev. Physiol., 7, 677 (1945).

²¹ M. Hartmann, E. Schlittler, Helv. Chim. Acta 23, 548 (1942).

²² R. Müller, Helv. Physiol. Acta 1, C 88 (1943); 2, 203 (1944).

Es zeigt sich somit, daß Substanz 2 am stärksten wirksam ist, dann folgen 6, 8 und 4, während 3, 5 und 7 relativ schwach sind.

Obwohl die Aufklärung der chemischen Konstitution bisher nur bei den Substanzen 2 und 3 durchgeführt wurde, glauben wir, daß es sich bei den Substanzen 2–8 um digitaloide Glykoside handelt. Dafür spricht außer der biologischen Wirksamkeit die Tatsache, daß diese 7 Stoffe im Ultraviolett selektive Absorption zeigen, mit einem Maximum bei ungefähr $217\text{ m}\mu$ und $\log \epsilon = \text{ca. } 4$ (siehe Tabelle II drittletzte Kolonne, vgl. Kurve)²³, wie dies für einfach α, β -ungesättigte digitaloide Laktone typisch ist^{24, 25}. Substanz 1 besitzt dagegen ein anderes Spektrum (siehe Kurve). Wir schlagen daher für die genannten Substanzen 2–8 die Bezeichnung-Odorosid A – Odorosid G vor.



Ultraviolett-Absorptions-Spektren in Alkohol²³

- 1 Substanz 1
- 5 Substanz 5 = Odorosid D
- 6 Substanz 6 = Odorosid E

Die anderen Odoroside gaben Kurven wie 5

²³ Wir danken Herrn Prof. Dr. H. Mohler, Zürich, für die Ausführung dieser Messungen; zur verwendeten Methodik vgl. T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* 20, 953 (1937), bes. S. 957, Fußnote 3.

²⁴ Vgl. W. D. Paist, E. R. Blout, F. C. Uhle, R. C. Elderfield, *Journ. Org. Chem.* 6, 273 (1941); L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, A. Fürst, *Helv. Chim. Acta*, 24, 716 (1941). Weitere Literatur siehe A. Katz, T. Reichstein, *Pharm. Act. Helv.* 19, 231 (1944).

²⁵ Das untersuchte Präparat von Substanz 6 zeigte außer dem Hauptmaximum bei ca. $217\text{ m}\mu$ noch ein schwächeres bei ca. $268,5\text{ m}\mu$, das wahrscheinlich durch eine geringe Menge einer stark absorbierenden Verunreinigung hervorgerufen wurde, denn beim Azetat von Substanz 6 wurde es nicht mehr gefunden. Bei der Verunreinigung könnte es sich vielleicht um ein digitaloides Laktone mit einer zusätzlichen Doppelbindung in 16,17-Stellung handeln, da das entsprechend gebaute Monoanhydro-gitoxigeninazetat ein sehr starkes Maximum bei ca. $273\text{ m}\mu$ zeigt, vgl. K. Meyer, *Helv. Chim. Acta* 29, 718 (1946).

Es mag noch erwähnt werden, daß alle 7 Odoroside eine Methoxylgruppe im Molekül enthalten, die vermutlich im Zuckeranteil gebunden ist. Alle geben eine positive (rote oder orange) *Legal*-Reaktion. Hingegen ist die *Keller-Kiliani*-Reaktion²⁶ nur bei Odorosid A und B positiv (blau). Alle Odoroside zeigen in wäßriger Lösung bitteren Geschmack, bei den meisten ist er sehr intensiv. Die wichtigsten Eigenschaften der 8 kristallisierten Substanzen und ihrer Azetate sind in der Tabelle II zusammengestellt. Dort sind auch die wahrscheinlichsten Bruttoformeln angegeben, wobei bisher aber nur die Formeln der Substanzen 2 und 3 wirklich bewiesen sind, die anderen haben vorläufig noch hypothetischen Charakter. Die Farbreaktionen mit 84proz. H_2SO_4 sind in der Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle II

Zusammenstellung der wichtigsten Eigenschaften der Substanzen 1-8

Subst. Nr. und Name	Smp. korr. ²⁷	$[\alpha]_D^{28}$	Wahrschein- lichste Formel ²⁹	Legal- Reak- tion ³⁰	Keller, Kili- ani- Reak- tion ²⁶	Absorp- tions- maximum im U. V. λ in $m\mu$ ²³	Toxizität	
							Katze in mg/kg ^{18, 31}	Frosch- herz ¹⁷
Subst. 1	203-204°	+ 70°	$\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_5$ (?)	Spur rosa	—	238,5 u. 283		unwirk- sam bei 10 ⁻⁴
Azetat	194-207°	?	?	?				
Subst. 2 Odorosid A	183-184°/ 198-206°	- 6°	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_7$	rot	blau	217	0,1859 (10)	10 ⁻⁵
Azetat	223-228°	0°	$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_8$					
Subst. 3 Odorosid B	ca. 150°/ 200-201°	- 20°	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_7$	rot	blau	218	ca. 1,7 (2)	10 ⁻⁴
Azetat	194-196° oder 210-222°	- 10°	$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_8$					
Subst. 4 Odorosid C	244-246°	- 36°	$\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{13}$	orange	—	215	0,7674 (4)	10 ⁻⁴
Azetat	nicht bereitet							

²⁶ Ausgeführt nach J. v. Ew. T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* 31, 883 (1948).

²⁷ Auf dem Kofler-Block bestimmt, Fehlergrenze $\pm 3^\circ$.

²⁸ Spez. Drehung auf ganze Grade auf- oder abgerundet. Wo nichts erwähnt in Chloroform; A = Äthanol; D = Dioxan; M = Methanol.

²⁹ Nur die Formeln von Substanz 2 und 3 sind sichergestellt.

³⁰ Ca. 0,2 mg Subst. im Glühröhrchen in ca. 0,1 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit einem Tropfen 1proz. Nitroprussid-natrium-Lösung, dann mit 0,2 cm³ 2-n. Natronlauge versetzt.

³¹ In Klammern Anzahl der verwendeten Tiere. Fehlergrenze siehe Tabelle I.

Subst. Nr. und Name	Smp. korr. ²⁷	[α] _D ²⁸	Wahr- scheinlichste Formel ²⁹	Legal- Reak- tion ³⁰	Keller Kili- ani- Reak- tion ²⁶	Absorp- tions- maximum im U. V. λ in m μ ²³	Toxizität	
							Katze in mg/kg _{18, 31}	Frosch- herz ¹⁷
Subst. 5 Odorosid D	245–247°	– 27° (D)	C ₃₀ H ₄₆ O ₁₀ (?)	orange	—	218	ca. 1,3 (2)	nicht geprüft
Azetat	128–132°/ 227–234°	– 12°	C ₃₄ H ₅₀ O ₁₂ (?)					
Subst. 6 Odorosid E	212–214°	+ 8° (M)	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₃	orange	—	215 u. 268,5	0,4173 (10)	nicht geprüft
Azetat	ca. 160/220/ 232/240°	– 3° (?)	C ₄₆ H ₆₆ O ₁₈			216		
Subst. 7 Odorosid F	281–285°	– 24° (M)	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₃	orange	—	216	ca. 1,9 (1)	nicht geprüft
Azetat	283–287°	– 8°	C ₄₆ H ₆₆ O ₁₈					
Subst. 8 Odorosid G	265–266°	– 20° (M)	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₈	schwach orange	—		0,6222 (10)	nicht geprüft
Azetat	229–231°	– 19°	C ₆₈ H ₈₂ O ₂₆			216		
Somalin ²¹	133–136°/ 197–198°	+ 9° (A)	C ₃₀ H ₄₆ O ₇	rot	blau		0,47 ²² (?)	3,85 · 10 ^{–6} ₂₂
Azetat	167–169°	+ 24°	C ₃₂ H ₄₈ O ₈					

Die Daten für Somalin und Somalin-azetat sind als Vergleich angeführt, da dieses Glykosid mit den Odorosiden A und B isomer ist.

Tabelle III

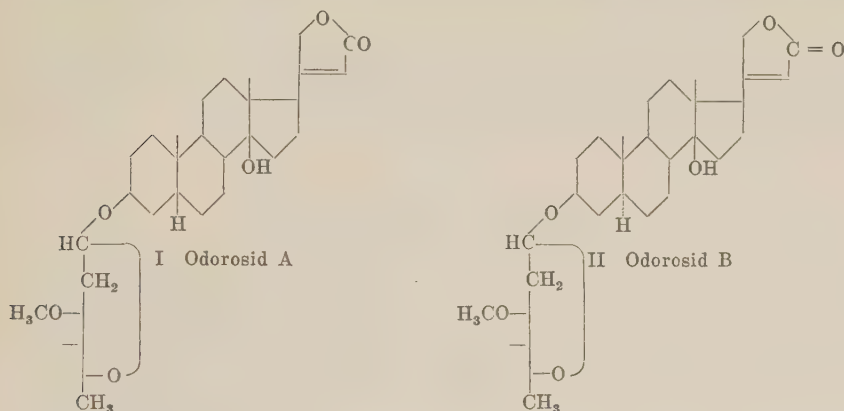
Farbreaktionen der 8 Substanzen und ihrer Azetate mit 84proz. H₂SO₄³²

Substanz	Färbung nach der angegebenen Zeit in Minuten					
	sofort	5'	15'	30'	60'	120'
Subst. 1	farblos	farblos	farblos	farblos		
Azetat	farblos	gelblich	gelblich	gelblich	farblos	farblos
Subst. 2 Odorosid A	sepia	dunkel- oliv	oliv	oliv	graubraun	grau violettstich
Azetat	dunkel- violett	violett, braunstich	dunkelviolet mit braunstich	dunkelviolet mit braunstich	dunkelviolet braun	dunkelgrau
Subst. 3 Odorosid B	sepia	dunkel- oliv	oliv	braun	graubraun	grauviolett
Azetat	violett	violett- braun	braun	braun	braun	violett
Subst. 4 Odorosid C	braunrot	violett- braun	braun	braungrau	hell braungrau	hellgrau braunstichig
Azetat	nicht bereitet					
Subst. 5 Odorosid D	rot	violett- braun	braun	olivgrau	hell braungrau	hellgrau braunstichig
Azetat	lila	lila	lilagrau	grau	grau	lilagrau
Subst. 6 Odorosid E	rot	braun- gelb	gelbbraun			olivgrün
Azetat Smp. 155/240°	gelblich	gelblich	gelblich	hellrosa	farblos	farblos
Subst. 7 Odorosid F	braunrot	violett		grauviolett	violett	
Azetat	violett	bräunlich	bräunlich	leicht bräunlich	leicht bräunlich	hell blaugrau
Subst. 8 Odorosid G	gelblich	Spur gelb	farblos			
Azetat	gelblich	gelblich	gelblich	orange gelb	bräunlich	grüngrau
Somalin ²¹	gelb mit grün Stich	gelb, olive Stich	gelbolive	hell oliv	hellbraun	grau
Azetat	dunkel- violett	dunkel- violett	dunkelviolet	dunkelviolet	dunkel violettbraun	dunkelgrau

³² Je ca. 0,1 mg Substanz in der Vertiefung einer weißen Porzellan-Tüpfelplatte mit 2-3 Tropfen 84proz. H₂SO₄ versetzt und rasch vermischt. Bei Tageslicht beobachtet.

Chemische Untersuchung

Bisher wurden nur Odorosid A (Subst. 2) und Odorosid B (Subst. 3) chemisch untersucht. Wir haben mit diesen begonnen, weil der positive Ausfall der *Keller-Kiliani*-Reaktion dafür sprach, daß es sich um Glykoside von 2-Desoxyzuckern handelt, die bekanntlich besonders leicht hydrolysierbar sind. Diese Vermutung hat sich bestätigt. Die Untersuchungen, über die in einer zweiten Mitteilung^{32 a)} in den *Helv. Chim. Acta* berichtet wird, haben ergeben, daß Odorosid A die Formel I³³ besitzt. Durch Hydrolyse



wird es nämlich in Digitoxigenin und einen Zucker gespalten, der als Diginose³⁴ erkannt wurde. Odorosid A ist mit Somalin²¹ aus *Adenium somalense* Balf. isomer, besitzt dasselbe Aglykon wie dieses und unterscheidet sich nur im Zuckeranteil, da Somalin Cymarose enthält. Odorosid B ist mit Odorosid A isomer und lieferte bei der Hydrolyse ebenfalls Diginose, aber ein bisher unbekanntes Aglykon. Es zeigte sich, daß sich dieses lediglich durch Raumisomerie an C-5 vom Digitoxigenin unterscheidet. Odorosid B besitzt somit Formel II. Die genannte Isomerie an C-5 ist somit als Ursache dafür anzusehen, daß Odorosid B biologisch etwa 8–10mal schwächer wirksam ist als Odorosid A. Auf Grund von Abbauversuchen haben *Tschesche* und *Bohle*^{35, 36} angenommen, daß dem Uzaringenin, dem Aglykon des Uzarins, eine Formel entsprechend II (ohne Zucker) zugrunde liegt³⁷. Dies ist wahrscheinlich richtig, aber ein Beweis kann nur indirekt erbracht werden, da intaktes Uzaringenin aus dem schwer

^{32 a)} *S. Rangaswami, T. Reichstein, Helv. Chim. Acta 32, 939 (1949).*

³³ Lediglich die Verknüpfungsart von Zucker und Aglykon ist in den 2 Formeln nicht bewiesen. Es steht somit nicht fest, ob eine α - oder β -glykosidische, furoide oder pyroide Bindung vorliegt.

³⁴ Dieser Zucker ist bisher nur aus Diginin isoliert worden, *C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. Chim. Acta 23, 975 (1940)*. Seine Konfiguration ist durch Synthese bewiesen. *Ch. Tamm, T. Reichstein, Helv. Chim. Acta 31, 1630 (1948).*

³⁵ *R. Tschesche, Zeitschrift Physiol. Chem. 229, 219 (1934); Ber. deutsch. chem. Ges. 68, 7 (1935).*

³⁶ *R. Tschesche, K. Bohle, Ber. deutsch. chem. Ges. 68, 2252 (1935).*

³⁷ Vgl. auch *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, A. Fürst, H. Heußner, Helv. Chim. Acta 30, 694 (1947).*

hydrolysierbaren Uzarin bisher nicht erhalten werden konnte. *Tschesche*^{3a} wies bereits darauf hin, daß die 5-Allo-Konfiguration wahrscheinlich den Hauptgrund für die relativ geringe Herzwirksamkeit des Uzarins darstellt.

Um die Odoroside A und B vom isomeren Somalin eindeutig zu differenzieren, wurde noch das Somalin-Azetat bereitet, das im experimentellen Teil beschrieben ist. Dieses Azetat ist von den Azetaten der Odoroside A und B leicht zu unterscheiden, während freies Somalin besonders von Odorosid B schwer zu unterscheiden ist und bei der Mischprobe nur eine geringe Schmelzpunktniedrigung gibt.

Der Eine von uns (S. R.) dankt der Andhra Universität, Waltair, Süd-Indien, für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte. Ferner danken wir den Herren Dr. H. Dahn und Dr. K. Meyer für ihre Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

Experimenteller Teil

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze bis 200° ca. $\pm 2^\circ$; darüber ca. $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden im Hochvakuum 1 Std. bei 60° getrocknet, zur Analyse, soweit nichts anderes angegeben, 4 Std. bei 100°. «Schweinchen» bedeutet, daß die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde. «Übliche Aufarbeitung» bedeutet: Eindampfen im Vakuum bei 30°, Aufnehmen in Chloroform-Äther, Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen. Farbreaktionen der reinen Stoffe siehe Tabellen II und III im theoret. Teil.

Extraktion der Droge

Das verwendete Material wurde in Travancore (Indien) im Dezember 1946 gesammelt. Die Stamm- und Astrinde wurde möglichst schnell an der Sonne getrocknet und in einer Mühle pulverisiert. Die Extraktion geschah in 2 Ansätzen.

Ansatz 1. 800 g gepulverte Rinde wurden mit Äther bei 18° erschöpfend perkoliert. Der hauptsächlich aus Harz, Wachs und Fett bestehende Rückstand (57 g) zeigte intensiv bitteren Geschmack und wurde wie unten beschrieben verarbeitet. Das vom Äther befreite Pulver wurde 8mal mit kochendem Methanol extrahiert, bis der letzte Extrakt nicht mehr bitter schmeckte. Das verbleibende Pulver wurde verworfen. Die vereinigten braungelben Methanolauszüge (ca. 5 Liter) wurden mit frisch gefällttem und neutral gewaschenem Bleihydroxyd (aus 1,1 kg krist. Bleiazetat) versetzt und das Gemisch ca. $\frac{1}{2}$ Std. auf der Maschine geschüttelt. Der dicke Niederschlag wurde durch eine mit Bleikarbonat gedichtete Nutsche abgesaugt. Das Filtrat wurde mit verd. H_2SO_4 bis zur eben sauren Reaktion auf Lackmus versetzt, im Vakuum bei ca. 30° Badtemperatur auf ca. 200 cm³ eingedampft. Die letzten Reste Methanol wurden nach Zugeben von Wasser durch weiteres Abdestillieren entfernt.

Der sirupöse wäßrige Rückstand (ca. 250 cm³) wurde 5mal mit je 200 cm³ Chloroform und 5mal mit je 160 cm³ Chloroform-Äthanol (2:1) ausgezogen. Jeder Auszug passierte 3 weitere Scheidetrichter mit 40 cm³ Wasser, 40 cm³ 2-n. Sodalösung und 40 cm³ Wasser. Die vereinigten Chloroformauszüge hinterließen nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum 6,8 g dunkelgelben schaumigen Rückstand (*Extrakt D*). In gleicher Weise lieferten die Chloroform-Äthanol-Auszüge 21,4 g etwas heller gelb gefärbten Rückstand.

Der ursprüngliche wäßrige Rückstand (bitter) und das erste Waschwasser wurden zusammen im Vakuum eingedampft. Der trockene Rückstand wurde in möglichst wenig Methanol gelöst, und unter kräftigem Rühren mit überschüssigem absolutem Alkohol versetzt, worauf ein klebriger Niederschlag ausfiel. Das klare Filtrat hinterließ, nach Eindampfen, einen fast farblosen, deutlich bitter schmeckenden Rückstand (37,9 g).

Der Niederschlag wurde nochmals mit Methanol und absolutem Alkohol behandelt und lieferte weitere 9,1 g Alkohollösliches (total 47 g; Trennung siehe unten). Der Chloroform-Äthanol-(2 : 1)-Extrakt wurde in 200 cm³ Wasser aufgeschlämmt, 5mal mit je 200 cm³ Chloroform-Äthanol (9 : 1) ausgezogen; die Auszüge passierten der Reihe nach je einen Scheidetrichter, mit 20 cm³ Wasser, 20 cm³ Sodalösung und 20 cm³ Wasser, in denen sie rasch ausgeschüttelt wurden. Eindampfen der einzeln über Na₂SO₄ getrockneten Extrakte im Vakuum gab 4,2 g Chloroform-Äthanol-(9 : 1)-Extrakt (*Extrakt E*). Der in der wäßrigen Phase verbleibende Teil (17,2 g, als Chloroform-Äthanol-(2 : 1)-Extrakt (*Extrakt F*) bezeichnet), wurde durch Eindampfen gewonnen.

Ansatz 2. 1 kg Pulver wurde mit Äther entfettet und wie im ersten Ansatz mit kochendem Methanol extrahiert und mit Pb(OH)₂ gereinigt. Das sirupöse wäßrige Konzentrat (ca. 300 cm³) wurde zunächst 6mal mit je 500 cm³ Chloroform ausgeschüttelt, bis der letzte Extrakt nicht mehr bitter schmeckte. Der so gewonnene, wie oben gewaschene Chloroformextrakt gab 14 g Eindampfrückstand. Dann wurde solange mit Chloroform-Äthanol (2 : 1) angeschüttelt (6mal, je 500 cm³), bis weitere Auszüge nicht mehr bitter schmeckten. (Trockener Rückstand nach Waschen wie oben 63,8 g). Der wäßrige Rest war jetzt kaum mehr bitter und hinterließ nach Eindampfen und Füllen mit Methanol und absolutem Alkohol, genau wie beim ersten Ansatz, nur 29 g Alkohollösliches.

Der Chloroform-Alkohol-(2 : 1)-Extrakt wurde in Wasser suspendiert und solange mit Chloroform-Alkohol (9 : 1) ausgeschüttelt, bis die Auszüge nicht mehr bitter schmeckten. Diese Auszüge gaben 15,9 g Trockenrückstand. Der wäßrige Teil wurde dann weiter solange mit Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgezogen, bis der wäßrige Rückstand nicht mehr bitter war. Die Auszüge gaben 37,6 g Trockenrückstand. Der wäßrige Rest wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und hinterließ 2,7 g Trockenrückstand (verworfen).

Übersicht der Ausbeuten in beiden Ansätzen siehe theoret. Teil.

Die 47 g mit Alkohol gereinigtes Material aus Wasserphase von Ansatz 1 wurden in 100 cm³ Wasser gelöst und 6mal mit je 800 cm³ Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt, bis die verbliebene wäßrige Phase nicht mehr bitter war. Die wie oben getrockneten Extrakte gaben beim Eindampfen noch 9,1 g Material (*Extrakt F*₁).

Trennung des Äther-Perkolats

Der Eindampfrückstand des Äther-Perkolats aus 2 kg Rinde (145,7 g) wurde mit 1 Liter Petroläther und 800 cm³ 50proz. wäßrigem Methanol längere Zeit energisch geschüttelt, wobei nur ein ganz kleiner Teil in beiden Phasen ungelöst blieb. Die wäßrig-methanolische Phase wurde in einem zweiten Scheidetrichter abgelassen und dort nochmals mit 400 cm³ Petroläther sehr energisch geschüttelt. Anschließend wurden die Petroläther-Phasen noch der Reihe nach mit 500 cm³ und ein drittes Mal mit 250 cm³ 50proz. Methanol ausgeschüttelt. Sie wurden dann getrocknet und hinterließen beim Eindampfen 116 g Rückstand, der nicht mehr bitter schmeckte.

Die vereinigten wäßrig-methanolischen Auszüge wurden im Vakuum auf ca. 30 cm³ eingeeengt, wobei sich eine klebrige Masse abschied. Die leicht lackmussaure Suspension wurde 3mal sehr energisch mit je 500 cm³ Äther ausgeschüttelt. Die der Reihe nach mit wenig Wasser gewaschenen Ätherauszüge wurden über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (9,1 g) wurde zur Entfernung saurer Anteile in 500 cm³ Chloroform-Äther-Gemisch (1 : 3) aufgenommen, 2mal mit je 10 cm³ 2-n. HCl, 4mal mit je 10 cm³ 2-n. Sodalösung und 3mal mit Wasser gewaschen. Die Waschlösungen passierten 2 weitere Scheidetrichter mit je 300 cm³ Chloroform-Äther-Gemisch. Die vereinigten Auszüge wurden über Na₂SO₄ getrocknet und hinterließen beim Eindampfen 5 g «Ätherextrakt» (stark bitter) (*Extrakt A*).

Die verbleibende wäßrige Phase und das erste Waschwasser wurden weiter 3mal mit je 300 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 1,9 g «Chloroformextrakt» (stark bitter) (*Extrakt B*).

Die wäßrige Phase wurde nun zweimal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Nach analogem Waschen und Trocknen resultierten beim Eindampfen noch 0,85 g «Extrakt C» (stark bitter).

Die nunmehr verbliebene wäßrige Phase war nicht mehr bitter und wurde verworfen.

**Chromatographische Trennung von Extrakt A,
Isolierung der Substanzen 2 und 3 sowie Nebenprodukte**

Die 5 g Extrakt A wurden in abs. Benzol gelöst und an einer mit abs. Benzol bereiteten Säule von 140 g alkalifreiem Al_2O_3 ³⁸ chromatographiert; zum Nachwaschen dienten je 500 cm³ Lösungsmittel.

Frak- tions- nummer	Eluiermittel	Eindampfückstand	
		Menge in mg	Smp. nach einmaligem Um- kristallisieren aus Methanol-Äther
1	Benzol	14	amorph
2	Benzol-Äther (1 : 1)	18	amorph
3	Äther	28	amorph
4	Äther-Chloroform (3 : 1)	306	164–174°
5	Äther-Chloroform (3 : 1)	501	192–203°
6	Äther-Chloroform (3 : 1)	325	202–209°
7	Äther-Chloroform (3 : 1)	203	202–208°
8	Äther-Chloroform (1 : 1)	385	180–203°
9	Äther-Chloroform (1 : 1)	298	153–187°
10	Äther-Chloroform (1 : 1)	216	154–160°
11	Äther-Chloroform (1 : 1)	198	154–164/202°
12	Äther-Chloroform (1 : 1)	142	146/203°
13	Äther-Chloroform (1 : 1)	87	146/203°
14	Äther-Chloroform (1 : 1)	59	146/203°
15	Chloroform	357	146/203°
16	Chloroform	113	138/203°
17	Chloroform	128	138/203°
18	Chloroform	120	amorph
19	Chloroform	111	amorph
20	Chloroform	71	amorph
21	Chloroform	42	227–240°
22	Chloroform	56	228–241°
23	Chloroform	34	226–238°
24	Chloroform-Methanol (49 : 1)	230	amorph
25	Chloroform-Methanol (49 : 1)	66	amorph
26	Chloroform-Methanol (49 : 1)	48	amorph
27	Chloroform-Methanol (49 : 1)	24	amorph
28	Chloroform-Methanol (19 : 1)	150	amorph
29	Chloroform-Methanol (4 : 1)	254	amorph
30	Chloroform-Methanol (4 : 1)		
31	Chloroform-Methanol (1 : 1)		
32	Methanol		

Fraktion 4 gab nach zweimaligem Umkristallisieren aus Azeton-Äther 80 mg große hexagonale Prismen vom Smp. 170–178°. Mit 84proz. H_2SO_4 keine Färbung. Wurde nicht weiter untersucht, event. lag unreine Substanz 1 vor.

Die Fraktionen 5–8 erwiesen sich als gleichartig und gaben zusammen aus Azeton-Äther 360 mg rohe Substanz 2.

³⁸ Bereitet nach J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* 27, 1287 (1944), und zwar Seite 1292, Fußnote 2.

Die Fraktionen 9–17 wurden vereinigt und gaben aus Azeton-Äther 600 mg fast reine Substanz 3 mit Doppel-Smp. 160°/197–201°.

Aus den Fraktionen 21–23 wurden 60 mg Kristalle vom Smp. 237–241° erhalten, die noch nicht untersucht wurden. Wahrscheinlich handelt es sich um Substanz 4 oder 5. Die anderen Fraktionen kristallisierten nicht.

**Chromatographische Trennung von Extrakt B,
Isolierung weiterer Mengen der Substanzen 2 und 3
und Nebenprodukte**

Die 1,9 g Extrakt B wurden an 55 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 200 cm^3 Lösungsmittel. Ein kleiner Teil des Extraktes war in reinem Benzol unlöslich und ging erst mit den chloroformhaltigen Gemischen in Lösung.

Frak- tions- nummer	Eluiermittel	Eindampfdruckstand	
		Menge in mg	Smp. nach einmaligem Um- kristallisieren aus Methanol-Äther
1	Benzol	Spur	
2	Benzol-Chloroform (99 : 1)	Spur	
3	Benzol-Chloroform (19 : 1)	Spur	
4	Benzol-Chloroform (9 : 1)	Spur	
5	Benzol-Chloroform (3 : 1)	27	amorph
6	Benzol-Chloroform (1 : 1)	374	197–208°
7	Benzol-Chloroform (1 : 1)	332	152/200°
8	Benzol-Chloroform (1 : 1)	253	158/200°
9	Benzol-Chloroform (1 : 1)	38	158/200°
10	Benzol-Chloroform (1 : 1)	50	142/200°
11	Chloroform	213	amorph
12	Chloroform	189	amorph
13	Chloroform	93	225–238°
14	Chloroform	51	225–238°
15	Chloroform	28	229–238°
16	Chloroform	28	
17	Chloroform-Methanol (99 : 1)	110	
18	Chloroform-Methanol (49 : 1)	41	
19	Chloroform-Methanol (49 : 1)	46	
20	Chloroform-Methanol (49 : 1)	30	
21	Chloroform-Methanol (19 : 1)	163	
22	Chloroform-Methanol (19 : 1)	43	
23	Chloroform-Methanol (4 : 1)	98	235–240
24	Chloroform-Methanol (1 : 1)	123	225–232°
25	Methanol	Spur	

Fraktion 6 gab 45 mg krist. Substanz 2.

Die Fraktionen 7–10 enthielten gleiches Material und gaben zusammen aus Azeton-Äther 200 mg fast reine Substanz 3 mit Doppel-Smp. 160°/196–201°.

Die Fraktionen 13–15 gaben 40 mg Kristalle vom Smp. 225–240° (wahrscheinlich rohe Subst. 4 oder 5), die nicht untersucht wurden.

Die Fraktionen 23 und 24 gaben auch noch wenig Kristalle vom Smp. ca. 225–240°, die nicht untersucht wurden. Die anderen Fraktionen kristallisierten nicht.

Chromatographische Trennung des Chloroformextraktes (D)

Isolierung der Substanzen 1, 2 und 3

und Nebenprodukte I, II, III und IV

a) Aus Ansatz 1. 6,8 g trockener Extrakt D wurden in 300 cm³ abs. Benzol heiß suspendiert. Nach Abkühlen wurde die klare Lösung auf eine mit Benzol bereitete Säule von 200 g alkalifreiem Al₂O₃³⁸ gegossen. Zum Nachwaschen dienten bei den ersten 15 Fraktionen je 300, bei den folgenden je 600 cm³ Lösungsmittel. – Vor dem Aufgießen wurden die in Benzol ungelöst gebliebenen Teile zunächst damit ausgekocht und dann abkühlen gelassen. Die letzten Materialreste gingen erst bei Zusatz von etwas Chloroform in Lösung.

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Trockenrückstand	
		Menge in mg	Smp. nach einmaligem Kristallisieren aus Azeton-Äther
1–7	Benzol, Äther und	sehr wenig	
8	Äther-Chloroform (3 : 1)	49	201–203°
9	Äther-Chloroform (1 : 1)	62	165–181°
10	Äther-Chloroform (1 : 1)	128	amorph
11	Äther-Chloroform (1 : 1)	485	162–165°
12	Äther-Chloroform (2 : 3)	345	168–169°
13	Äther-Chloroform (2 : 3)	401	162–163°
14	Äther-Chloroform (1 : 3)	380	150–151°/195–196°
15	Äther-Chloroform (1 : 3)	246	154°/193–197°
16	Äther-Chloroform (1 : 9)	292	158–160°
17	Chloroform	343	amorph
18	Chloroform	236	amorph
19	Chloroform-Methanol (4 : 1)	90	amorph
20	Chloroform-Methanol (4 : 1)	1379	amorph
21	Chloroform-Methanol (1 : 1)	136	amorph
22	Methanol	153	amorph
23	Methanol	220	amorph

Fraktion 8 ergab aus Azeton-Äther ca. 40 mg rohe *Substanz 1*, Smp. 201–203°.

Die Fraktionen 11–13 erwiesen sich nach Smp., Mischprobe und H₂SO₄-Reaktion untereinander als identisch. Sie wurden vereinigt und gaben aus Azeton-Äther ca. 350 mg rohe *Substanz 2* (Odorosid A) vom Smp. 180–182°. Aus den Mutterlaugen wurden ca. 5 mg Kristalle erhalten, die unscharf bei 234–244° schmolzen. (*Nebenprodukt I*, wahrscheinlich unrein. Farbreaktion mit 84proz. H₂SO₄: braun-grün [2 Min.], grau-grün [30 Min.], grau [1 Std.]). *Legal*-Reaktion positiv (weinrot).

Die Fraktionen 14 und 15 erwiesen sich untereinander als identisch und gaben zusammen aus Azeton-Äther ca. 270 mg rohe *Substanz 3* (Odorosid B) vom Smp. 198–200°. Aus den Mutterlaugen ließen sich auch hier ca. 10 mg Kristalle vom Smp. 237–241° isolieren (*Nebenprodukt II*, die Mischprobe mit *Nebenprodukt I* schmolz aber bereits bei 214–230°, sodaß die Identität unwahrscheinlich ist. Farbreaktion mit 84proz. H₂SO₄: orange rot – orange [2 Min.], gelb [2 Std.] zitronengelb [16 Std.]). *Legal*-Reaktion positiv [rot]).

b) Aus Ansatz 2. 14 g Extrakt wurde in Äther-Chloroform (3 : 1) gelöst und an einer mit Äther-Chloroform (3 : 1) bereiteten Säule von 420 g Al₂O₃ chromatographiert. Pro Fraktion wurden je 700 cm³ der in folgender Tabelle angegebenen Lösungsmittel verwendet:

Frak- tions- nummer	Lösungsmittel	Eindampfdruckstand	
		Menge in mg	Smp. nach einmalig- em Kristallisieren aus Azeton-Äther
1-5	Äther-Chloroform (3 : 1)	wenig	amorph
6	Äther-Chloroform (1 : 1)	50	amorph
7	Äther-Chloroform (1 : 1)	93	185-192°
8	Äther-Chloroform (1 : 1)	366	amorph
9	Äther-Chloroform (1 : 1)	291	amorph
10	Äther-Chloroform (1 : 1)	395	185-188°
11	Äther-Chloroform (1 : 1)	204	194-198°
12	Äther-Chloroform (1 : 1)	270	190-200°
13	Äther-Chloroform (2 : 3)	265	191-202°
14	Äther-Chloroform (2 : 3)	150	197-206°
15	Äther-Chloroform (1 : 4)	100	191-203°
16	Äther-Chloroform (1 : 4)	282	172-206°
17	Äther-Chloroform (1 : 4)	188	160-164°/194°
18	Äther-Chloroform (1 : 4)	155	168-200°
19	Chloroform	259	(175° Sint.) 198-201°
20	Chloroform	452	192-200°
21	Chloroform	306	227-233°
22	Chloroform-Methanol (99 : 1)	150	240-248°
23	Chloroform-Methanol (99 : 1)	958	220-235°
24	Chloroform-Methanol (99 : 1)	930	232-235°
25-33	Chloroform-Methanol (49 : 1 bis 4 : 1)	1490	amorph
34	Chloroform-Methanol (4 : 1)	186	Aus methanolhal- tigem Wasser kri- stallisiert (Reini- gung langwierig)
35	Chloroform-Methanol (1 : 1)	538	
36	Chloroform-Methanol (1 : 1)	325	
37-40	Chloroform-Methanol (1 : 1)	140	amorph
41-47	Methanol	wenig	amorph

Fraktion 7 gab aus Azeton-Äther 93 mg rohe Substanz 1 vom Smp. 185-192°.

Die Fraktionen 11-16 erwiesen sich nach Mischprobe und H₂SO₄-Reaktion als identisch und gaben zusammen aus Azeton-Äther 450 mg rohe Substanz 2 vom Smp. ca. 200° (hochschmelzende Form).

Die Fraktion 17 stellte ein schwer trennbares Gemisch dar. Es ließen sich kleine Mengen Substanz 2 und 3 daraus isolieren.

Die Fraktionen 18-20 gaben nach wiederholtem Umkristallisieren aus Azeton-Äther 392 mg reine Substanz 3 vom Smp. 200-201°.

Die Kristalle aus den Fraktionen 21 und 22 erwiesen sich nach Mischprobe und H₂SO₄-Reaktion als identisch. Es wurden 25 mg vom Smp. 234-241° von zweifelhafter Reinheit erhalten und als *Nebenprodukt III* bezeichnet. Farbreaktion mit 84proz. H₂SO₄ gleich wie mit Nebenprodukt II. *Legal*-Reaktion positiv (braunrot). Nebenprodukt II und III gaben keine Schmelzpunktniedrigung, die Identität ist aber unsicher.

Die Fraktionen 23 und 24 waren ebenfalls miteinander identisch und gaben ca. 25 mg Kristalle vom Smp. 229-240° (Hauptmenge bis 233°) von zweifelhafter Reinheit und als *Nebenprodukt IV* bezeichnet. Farbreaktion mit 84proz. H₂SO₄ braungelb - gelb (2 Min.) → braungelb (30 Min.) → rotstichig braun (1 Std.) → grau (2 Std.). *Legal*-Reaktion positiv (hellrot). Die Mischprobe mit Nebenprodukt III schmolz zur Hauptsache bei 218-225° (Rest bis 232°).

Aus den Fraktionen 34–36 konnten durch Umkristallisieren aus wenig Methanol mit Wasser verschiedene Substanzen (wahrscheinlich 4 und 5) isoliert werden, die jedoch noch nicht rein erhalten wurden.

Chromatographie des Chloroform-Äthanol-(9 : 1)-Extraktes (E)

Isolierung von Substanz 4 (Odosid C)

Eine Extraktprobe (0,7 g) wurde wie oben beschrieben an einer mit Benzol bereiteten Säule von 22 g Al_2O_3 chromatographiert. Aus den mit Chloroform-Methanol-(19 : 1) sowie den ersten zwei mit Chloroform-Methanol-(9 : 1) eluierten Fraktionen ließen sich aus Methanol-Äther Kristalle gewinnen, die untereinander identisch waren. Total wurden 36 mg krist. Substanz 4 vom Smp. 243° erhalten. Die andern Fraktionen kristallisierten nicht.

Chromatographie des Chloroform-Äthanol-(2:1)-Extraktes (F)

Isolierung der Substanzen 5, 6, 7 und 8 (als Azetat)

19,5 g Extrakt (aus Ansatz 1) wurden wie oben an einer mit Benzol bereiteten Säule aus 500 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 1 Liter Lösungsmittel. Die letzten Materialreste gingen erst nach Anwendung von Chloroform-Methanol (19 : 1) in Lösung. Bei dieser Chromatographie konnten Kristalle nur aus Wasser erhalten werden. Die Eindampfrückstände wurden jeweils in wenig Methanol gelöst, mit Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum entfernt.

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand	
		Menge in g	Smp. nach einmaligem Kristallisieren aus Wasser
1	Benzol	Spuren	
2	Chloroform	Spuren	
3	Chloroform-Methanol (19 : 1)	Spuren	
4	Chloroform-Methanol (9 : 1)	sehr wenig	
5	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,077	amorph
6	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,239	$212-240^\circ$
7	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,606	$210-240^\circ$
8	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,635	$180-190^\circ$
9	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,398	$180-182^\circ$
10	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,340	$178-180^\circ$
11	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,306	$182-186^\circ$
12	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,253	$175-180^\circ$
13	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,225	$176-180^\circ$
14	Chloroform-Methanol (9 : 1)	0,186	$180-185^\circ$
15	Chloroform-Methanol (4 : 1)	0,419	$182-185^\circ$
16	Chloroform-Methanol (4 : 1)	0,420	$165-175^\circ$
17–22	Chloroform-Methanol (4 : 1)	1,147	amorph
23–30	Chloroform-Methanol (1 : 1)	} 10,30	amorph
31–38	Methanol		amorph

Die Kristalle aus den Fraktionen 6 und 7 erwiesen sich als identisch. Sie gaben zusammen 150 mg rohe Substanz 5 vom Smp. $212-240^\circ$.

Die Kristalle aus den Fraktionen 8–12 erwiesen sich als Gemisch. Durch fraktionierte Kristallisation aus Methanol-Äther konnte eine Trennung erreicht werden. Es wurden 480 mg rohe Substanz 6 vom Smp. ca. 212° und wenige mg rohe Substanz 7 vom

Smp. ca. 280° erhalten. Die Fraktionen 13–16 gaben nur noch Substanz 7, total wurden davon 80 mg gewonnen.

Aus den Fraktionen 17–38 konnten direkt keine Kristalle erhalten werden. Eine größere Anzahl dieser Fraktionen wurde einzeln azetyliert, worauf sich aus 23–38 kristallisierte Azetate isolieren ließen (siehe weiter unten). Bei den Fraktionen 17–22 war dies nicht möglich. Daher wurden diese zusammen (total 1,147 g) in 5 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 4 cm³ Azetanhydrid versetzt und 2 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 1,516 g rohes Azetatgemisch, das an 46 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die Hauptmenge des Materials wurde mit Äther-Chloroform (1 : 1) eluiert, doch ließen sich aus keiner Fraktion Kristalle gewinnen.

Die Azetylierung der Fraktionen 24, 26, 28, 31 und 33 wurde einzeln durchgeführt. Fraktion 31 (0,93 g) gab 1,331 g rohes Azetat und daraus aus Methanol-Äther 0,436 g Kristalle vom Smp. 218–231° (rohes 8-Azetat). Fraktion 33 (0,49 g) gab analog 0,76 g rohes Azetat und daraus ca. 0,270 g gleiche Kristalle. Die Fraktionen 24, 26 und 28 gaben ebenfalls krist. Azetate, die aber zur Hauptsache bei 180–185° schmolzen, mit kleinem Rest, der sich erst bei ca. 215° verflüssigte. Wiederholtes Umkristallisieren gab kein anderes Resultat. Nach Chromatographie ließ sich die Hauptmenge in Kristallen vom Smp. 180–186° erhalten, aber weiteres Umkristallisieren gab schließlich nur eine sehr kleine Menge Azetat von Substanz 8 vom Smp. 223–230°. Auf die Reinigung wurde daher verzichtet. Die verbleibenden Fraktionen 23, 25, 27, 29, 30, 32, 34–38 wurden ebenfalls azetyliert und alle Azetate aus 23–38 (außer 31 und 33) vereinigt, das Gemisch (11 g) in abs. Benzol gelöst und an einer mit Benzol bereiteten Säule aus 280 g alkalifreiem Al₂O₃ chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 600 cm³ Lösungsmittel.

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfdruckstand	
		Menge in g	Smp. nach einmaligem Kristallisieren aus Azeton-Äther
1–6	Benzol, Äther, Äther-Chloroform-Gemische bis Äther-Chloroform (3 : 1)	nur Spuren	
7	Äther-Chloroform (1 : 1)	5,75	amorph
8	Äther-Chloroform (1 : 1)	3,4	180–230°
9	Äther-Chloroform (1 : 1)	0,9	224–230°
10	Äther-Chloroform (1 : 1)	0,27	220–226°
11	Äther-Chloroform (1 : 1)		215–222°
12	Chloroform		192–204°
13–16	Chloroform und Chloroform-Methanol (99 : 1)	wenig	amorph
17	Chloroform-Methanol (98 : 2)	0,15	amorph
18	Chloroform-Methanol (98 : 2)	0,06	amorph
19–26	Chloroform-Methanol (98 : 2) bis Methanol	sehr wenig	amorph

Die Fraktionen 8, 9 und 10 gaben nach zweimaligem Umkristallisieren aus Azeton-Äther 1,2 g reines Azetat von Substanz 8, vom Smp. 226–230°.

Die Fraktionen 11 und 12 waren klein und wurden nicht untersucht.

Isolierung weiterer Mengen von Substanz 8-Azetat

9,1 g Extrakt F₁ wurden wie oben azetyliert und gaben 12,6 g rohes Azetat und daraus durch direkte Kristallisation 4,2 g kristallisiertes 8-Azetat vom Smp. 226–230°.

Substanz 1

Das beschriebene Rohprodukt wurde zur Analyse aus Wasser, dann aus Azeton-Äther umkristallisiert. Rhombische und hexagonale farblose Plättchen, Smp. 203–204°, $[\alpha]_D^{24} = +70,4^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,5718$ in Chloroform).

5,748 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{24} = +0,40^\circ \pm 0,02^\circ$

3,486 mg Subst. (Schweinchen) gaben 9,871 mg CO₂ und 2,416 mg H₂O (ETH)

C₃₄H₄₀O₅ (528,66) Ber. C 77,24 H 7,63 %
Gef. C 77,27 H 7,76 %

Das U. V.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte zwei Maxima bei 238,5 m μ ($\log \epsilon = \text{ca. } 4,33$) und bei 283 m μ ($\log \epsilon = \text{ca. } 4,51$) (ber. auf Mol. Gew. 528,66). Am isolierten Froschherz zeigte die Substanz bis zu einer Konzentration von 10⁻⁴ keine Wirkung. Die Kristalle schmeckten schwach bitter. Die Analysenwerte würden auch auf die Formeln C₂₀H₂₄O₃ oder C₂₇H₃₂O₄ passen.

Azetat. 22 mg Subst. 1 wurden mit 0,4 cm³ abs. Pyridin und 0,4 cm³ Azetanhydrid 3 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 35 mg Rohprodukt. Aus Äther-Petroläther nach 3 Std. 8 mg farblose Drusen. Smp. 194–199° (Spur Rest bis 207°). Die Mutterlauge kristallisierte nicht. 51 mg weniger reine Substanz 1 vom Smp. 190–198° gaben analog 88 mg rohes Azetat und daraus ca. 20 mg Kristalle, die gleich wie die obigen schmolzen. Die Mutterlaugen der zweiten Portion gaben nach Chromatographie nur noch 5 mg Kristalle von ähnlichem Smp. wie oben.

Substanz 2 (Odorosid A) (Formel I)

Diese Substanz wurde in zwei verschiedenen Formen erhalten. Das Präparat aus Ansatz 1 wurde aus Wasser, dann aus Azeton-Äther umkristallisiert. Farblose Nadeln, Smp. 183–184° (tieferschmelzende Form). $[\alpha]_D^{17} = -5,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,106$ in Chloroform).

11,095 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,055^\circ \pm 0,02^\circ$

3,707 mg Subst. (Schweinchen) gaben 9,43 mg CO₂ und 3,11 mg H₂O (F. W.)

4,127 mg Subst. (Schweinchen) gaben 1,780 mg AgJ (F. W.)

C₃₀H₄₆O₇ (518,67) Ber. C 69,47 H 8,94 -OCH₃ 5,98 %
Gef. C 69,42 H 9,39 -OCH₃ 5,70 %

Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 217 m μ und $\log \epsilon = \text{ca. } 3,92^{23}$. Odorosid A schmeckte stark bitter. Am Froschherz trat bei einer Konzentration von 10⁻⁵ systol. Stillstand ein¹⁷. Die Prüfung an 10 Katzen¹⁸ gab als geometrisches Mittel der letalen Dosis = 0,1859 mg/kg.

Aus Ansatz 2 wurde dieselbe Substanz nur noch in der hochschmelzenden Form erhalten. Aus Wasser, dann aus Azeton-Äther farblose dicke Nadeln, die immer etwas unscharf bei ca. 198–206° schmolzen. $[\alpha]_D^{20} = -7,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,000$ in Chloroform).

10,092 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,07^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Mischprobe mit der tieferschmelzenden Form schmolz bei 198–206°. Die tieferschmelzende Form konnte auch durch Impfen in die hochschmelzende Form übergeführt werden. Die Farbreaktion mit 84proz. H₂SO₄ war bei beiden Formen gleich. Die Mischprobe mit Somalin²¹ vom Smp. 198–199° schmolz zur Hauptsache bei 174–185°, ein Rest bis 197°.

Azetat

a) Aus tief schmelzender Form

40 mg Odorosid A vom Smp. 182–184° wurden in 0,3 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 0,2 cm³ Azetanhydrid versetzt und 2 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung

gab 52 mg rohes Azetat. Aus Azeton-Äther sowie aus Chloroform-Äther farblose Prismen; Smp. 223–228°. $[\alpha]_D^{20} = +0,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9830$ in Chloroform).

9,922 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = +0,002^\circ \pm 0,02^\circ$

3,115 mg Subst. gaben $7,800 \text{ mg CO}_2$ und $2,468 \text{ mg H}_2\text{O}$ (OAB)

$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_8$ (560,7) Ber. C 68,54 H 8,63 %

Gef. C 68,33 H 8,86 %

b) Aus hochschmelzender Form

50 mg Odorosid A vom Smp. 200–204° wurden gleich azetyliert. Das Rohprodukt (60 mg) gab aus Azeton-Äther Prismen vom Smp. 222–227°. Die Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Präparat schmolz ebenso. Zur Sicherheit wurde das ganze Azetat noch chromatographiert. Die Hauptmenge wurde mit Äther sowie mit Äther-Chloroform (19 : 1) eluiert. Aus allen diesen Fraktionen wurde nur dasselbe Material erhalten.

Somalin-azetat

58 mg Somalin^{21, 39} wurden wie oben azetyliert. Das Rohprodukt (66 mg) erwies sich als leicht ätherlöslich und kristallisierte zunächst auch nach Animpfen mit Odorosid-A-azetat nicht. Es wurde chromatographiert, wobei fast die ganze Substanz mit Benzol-Äther und reinem Äther eluiert wurde. Aus Äther-Petroläther wurden hierauf linsenförmige Kristalle vom Smp. 167–169° erhalten. $[\alpha]_D^{19} = +23,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,149$ in Chloroform).

11,521 mg Subst. zu $1,00293 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{19} = +0,273^\circ \pm 0,02^\circ$

4,396 mg Subst. gaben $11,040 \text{ mg CO}_2$ und $3,490 \text{ mg H}_2\text{O}$ (OAB)

$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_8$ (560,70) Ber. C 68,54 H 8,63 %

Gef. C 68,53 H 8,88 %

Substanz 3 (Odorosid B) (Formel II)

Das Rohprodukt wurde aus Wasser, dann aus Azeton-Äther umkristallisiert. Farblose, dicke, zu Drusen vereinigte Nadeln mit Doppel-Smp. ca. $150^\circ/200\text{--}201^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = -19,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,589$ in Chloroform).

15,974 mg Subst. zu $1,0052 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = -0,31^\circ \pm 0,02^\circ$

3,628 mg Subst. (Schweinchen) gaben $9,172 \text{ mg CO}_2$ und $2,885 \text{ mg H}_2\text{O}$ (ETH)

4,171 mg Subst. (Schweinchen) gaben $1,970 \text{ mg AgJ}$ (F. W.)

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_7$ (518,67) Ber. C 69,47 H 8,94 $-\text{OCH}_3$ 5,98 %

Gef. C 68,99 H 8,90 $-\text{OCH}_3$ 6,24 %

Die Mischprobe mit der hoch schmelzenden Form der Substanz 2 (Odorosid A) schmolz bei $164\text{--}202^\circ$ (Hauptmenge bis 180°), diejenige mit Somalin (Smp. $133\text{--}136^\circ/197\text{--}198^\circ$) bei $130\text{--}170^\circ/190\text{--}194^\circ$, gab also nur eine sehr geringe Depression. Substanz 3 war in Wasser fast unlöslich, in organ. Lösungsmitteln etwas schwerer löslich als Substanz 2. Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei $218 \text{ m}\mu$ und $\log \epsilon = \text{ca. } 3,80$ ber. auf Mol. Gew. $518,67$ ²³. Auch die Färbung mit 84proz. H_2SO_4 war praktisch gleich wie bei Substanz 2.

Azetat

52 mg Odorosid B vom Smp. 200–201° wurden wie oben azetyliert (Ausschüttelung bei der Aufarbeitung bei 0°) und gaben 66 mg rohes Azetat. Aus Chloroform-Äther oder Azeton-Äther wurden zwei verschiedene Formen erhalten, die ineinander umwandelbar

³⁹ Wir danken Herrn Prof. Dr. E. Schlittler auch hier bestens für dieses Material.

waren. Die Abscheidung der einen oder andern war außer vom Lösungsmittel auch von unabgeklärten Zufällen abhängig. Kleine dicke Prismen, Smp. 194–196°, oder zu Büscheln vereinigte Nadeln, Smp. 210–220°. $[\alpha]_D^{20} = -10,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7172$ in Chloroform).

7,193 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,072^\circ \pm 0,02^\circ$

3,826 mg Subst. gaben 9,592 mg CO₂ und 2,946 mg H₂O (ETH)

C₃₂H₄₈O₈ (560,70) Ber. C 68,54 H 8,63 %
Gef. C 68,42 H 8,60 %

Die Mischprobe mit Odorosid-A-azetat schmolz bei 198–226°.

Substanz 4 (Odorosid C)

Das Rohprodukt gab aus Methanol-Äther farblose Körner. Smp. 244–246°, $[\alpha]_D^{21} = -35,8^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,4334$ in Methanol-Chloroform 1 : 9).

4,357 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = -0,155^\circ \pm 0,02^\circ$

3,720 mg Subst. (Schweinchen) gaben 8,50 mg CO₂ und 2,78 mg H₂O (F. W.)

C₃₀H₄₆O₁₁ (582,67) Ber. C 61,84 H 7,96 %

C₃₆H₅₆O₁₃ (696,81) Ber. C 62,05 H 8,10 %
Gef. C 62,36 H 8,36 %

Substanz 4 war schwer löslich in Wasser, in organ. Lösungsmitteln aber noch schwerer löslich als Subst. 3. Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei ca. 215 m μ und $\log \epsilon =$ ca. 4,03 (ber. auf Mol. Gew. 582,67) oder ca. 4,10 (ber. auf Mol. Gew. 696,81)²³. Substanz 4 schmeckte bitter. Am isolierten Froschherz trat systolischer Stillstand bei einer Konzentration von etwa 10⁻⁴ ein¹⁷. Die Prüfung an 4 Katzen gab als geometrisches Mittel der letalen Dosis 0,7674 mg/kg¹⁸. Die Wirksamkeit dieser Substanz scheint somit zwischen denjenigen von Subst. 2 und Subst. 3 zu liegen.

Substanz 5 (Odorosid D)

Dieser Stoff war in Methanol relativ schwer löslich und ließ sich daraus verhältnismäßig leicht reinigen. Farblose große Nadeln vom Smp. 245–247°. Einmal wurde auch ein Kristallinat vom Smp. 172–174° erhalten, das sich nach halbtägigem Liegen aber bereits in die hoch schmelzende Form umgewandelt hatte. $[\alpha]_D^{17} = -27,1^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,5028$ in Dioxan).

5,043 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,136^\circ \pm 0,02^\circ$

3,614 mg Subst. (Schweinchen) gaben 8,29 mg CO₂ und 2,67 mg H₂O (F. W.)

4,018 mg Subst. (Schweinchen) gaben 1,303 mg AgJ (Zeisel) (F. W.)

C₃₆H₅₆O₁₃ (696,81) Ber. C 62,05 H 8,10 -OCH₃ 4,45 %
Gef. C 62,60 H 8,27 -OCH₃ 4,29 %

Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 218 m μ und $\log \epsilon =$ ca. 4,07 (ber. auf Mol. Gew. 696,81)²³. Die Mischprobe mit Substanz 4 schmolz bei 232–235°, trotzdem ist die Verschiedenheit der 2 Stoffe damit noch nicht sichergestellt. Substanz 5 zeigte deutlich bitteren Geschmack. Die Prüfung an zwei Katzen ergab als letale Dosis 1,1412 und 1,4996 mg/kg. Dieser Wert ist merklich höher als der bei Substanz 4 gefundene. Wegen der geringen Anzahl der verwendeten Tiere ist dieser Befund aber mit einer großen Unsicherheit behaftet. Leider gründet sich die Unterscheidung zwischen den Substanzen 4 und 5 zur Hauptsache auf diesen Unterschied, da von Substanz 4 wegen ungenügender Materialmenge kein Azetat bereitet werden konnte.

Azetat

a) Tief schmelzende Form: 15 mg Substanz 5 vom Smp. 245–247° wurden in 0,3 cm³ abs. Pyridin und 0,3 cm³ Azetanhydrid 4 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 22 mg Rohprodukt. Aus wenig Azeton-Kristalldrusen Smp. 122–130°. Zur Reinigung wurden Kristalle und Mutterlaugen an 0,3 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (1:1) und reinem Chloroform eluierbaren Anteile gaben aus Azeton-Äther zu Drusen vereinigte rechteckige Blättchen. Smp. 128–131°. $[\alpha]_D^{18} = -12,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9793$ in Chloroform).

9,822 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,118^\circ \pm 0,02^\circ$

b) Hoch schmelzende Form: Zufällig wurde beim Umkristallisieren auch einmal aus denselben Lösungsmitteln eine hoch schmelzende Form erhalten, die schwer löslich war. Die tief schmelzende Form wurde in wenig Methanol gelöst und mit der hoch schmelzenden angeimpft, worauf sich sofort scharikantige Körner abschieden. Nach Zusatz von Äther wurde abgenutscht. Smp. 227–234° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = -13,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,459$ in Chloroform).

14,731 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,195^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 4 Std. im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet.

3,539 mg Subst. gaben 7,78 mg CO₂ und 2,46 mg H₂O (S. W.)

3,622 mg Subst. gaben 8,294 mg CO₂ und 2,482 mg H₂O (ETH)

3,373 mg Subst. verbr. 1,518 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (ETH)

C ₃₄ H ₅₀ O ₁₂ (650,74)	Ber. C 62,75	H 7,74	-OCH ₃ 4,77 %
	Gef. C 62,84	H 8,15	-OCH ₃ 4,65 %
	Gef. C 62,49	H 7,67 %	

Die Substanz zeigte in alkoholischer Lösung im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 218 m μ und $\log \epsilon = 4,104$ (ber. auf Mol. Gew. 650,74), im Beckman-Spectrophotometer aufgenommen. Die Tetranitromethanprobe war negativ.

Substanz 6 (Odoroid E)

Das Rohprodukt wurde aus Methanol-Äther, Wasser, Azeton-Äther und Dioxan-Azeton umkristallisiert und schmolz dann bei 212–214°. Substanz 6 war viel leichter löslich als die Substanzen 5 und 7 und schied sich in linsenförmigen Aggregaten aus, wobei die Form der Einzelkristalle nicht deutlich erkennbar war. Daher ist es schwer zu sagen, ob das Präparat völlig einheitlich war; nach dem Resultat der Azetylierung ist dies unsicher. $[\alpha]_D^{17} = +8,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,6707$ in Methanol).

6,717 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,055^\circ \pm 0,02^\circ$

3,768 mg Subst. 3 Std. bei 100° im Hochvakuum getrocknet gaben

0,209 mg Gewichtsverlust = 5,52 %

3,559 mg Subst. (Schweinchen) gaben 7,96 mg CO₂ und 2,62 mg H₂O (F. W.)

3,542 mg Subst. 6 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ getrocknet gaben

0,290 mg Gewichtsverlust = 8,18 %

3,252 mg Subst. (Schweinchen) gaben 7,46 mg CO₂ und 2,35 mg H₂O (S. W.)

3,224 mg Subst. (Schweinchen) gaben 1,319 mg AgJ (Zeisel) (F. W.)

C₃₆H₅₆O₁₃ · 2 H₂O (732,84)

Ber. H₂O 4,92 %

C₃₆H₅₆O₁₃ · 3 H₂O (750,86)

Ber. H₂O 7,20 %

Gef. H₂O 5,52 % (Nach 3 Std.)

Gef. H₂O 8,18 % (Nach 6 Std.)

C₃₆H₅₆O₁₃ (696,81)

Ber. C 62,05 H 8,10 -OCH₃ 4,45 %

C₃₆H₅₆O₁₃ · H₂O (714,82)

Ber. C 60,49 H 8,18 -OCH₃ 4,34 %

Gef. C 61,04 H 8,24 -OCH₃ 5,41 % (F. W.)

Gef. C 62,60 H 8,09 % (S. W.)

Die getrocknete Substanz ist stark hygroskopisch, daher sind die Analysenwerte etwas unsicher. Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei ca. 215 m μ und $\log \epsilon =$ ca. 3,96 sowie einem zweiten Maximum bei 268,5 m μ und $\log \epsilon =$ ca. 3,83 (ber. auf Mol. Gew. 750,90)²³. Substanz 6 schmeckte stark bitter. Die biologische Prüfung an 10 Katzen ergab als geometrisches Mittel der letalen Dosis 0,4173 mg $\pm$ 0,0449 mg/kg¹⁸, also eine beträchtliche Wirksamkeit.

Azetat

Versuch a). 20 mg Odorosid E (Analysenpräparat Smp. 212–214° mit 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,4 cm³ Azetanhydrid 14 Std. bei 35° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 36 mg rohes Azetat. Aus Azeton-Äther farblose, zu Drusen vereinigte feine Nadeln, von unscharfem Smp. Hauptmenge verflüssigte sich bei 152–156°, ein kleiner Rest erst bei 190°. Bei weiterem Erhitzen erstarrte die Schmelze bei ca. 210° zu Nadeln, die definitiv bei 235–245° (Zers.) schmolzen.

Versuch b). 186 mg nicht ganz reines Odorosid E vom Smp. 211–214° (im Vakuum getrocknet) in 3 cm³ abs. Pyridin und 2,5 cm³ Azetanhydrid 3 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 262 mg Rohprodukt. Aus Azeton-Äther 180 mg vom Smp. 152–162°. Kristalle und Mutterlaugen wurden vereinigt und an 8 g Al₂O₃ sehr sorgfältig chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten für

Fraktion 1–5 Äther-Chloroform (1 : 1)

Fraktion 6–15 Chloroform

Fraktion 16–25 Chloroform-Methanol (199 : 1)

Fraktion 26–35 Chloroform-Methanol (99 : 1)

Fraktion 36–43 Chloroform-Methanol mit steigendem Methanolgehalt bis zu reinem Methanol.

Die relativ geringen und schlecht schmelzenden Fraktionen 1–6 sowie 19–43 wurden verworfen. Die Fraktionen 7–16 zeigten gleiche Eigenschaften und wurden vereinigt (Kristallisat A). Fraktion 17 enthielt die Hauptmenge des eingesetzten Materials und gab bei fraktionierter Kristallisation aus Methanol-Äther, Chloroform-Äther und Azeton-Äther die Kristallisate B, C und D. Fraktion 18 verhielt sich wie Kristallisat B und wurde mit diesem vereinigt.

Kristallisat A. Aus Azeton-Äther farblose, zu Drusen vereinigte feine Nadeln, Sintern bei 155°, bei 163–170° teilweises Schmelzen und gleichzeitige Umwandlung unter Erstarren, dann meistens dreifacher Smp. 220–223°/232°/240–242°; $[\alpha]_D^{17} = -3,40 \pm 20$ (c = 0,9577 in Chloroform).

9,605 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,0330 \pm 0,020$

3,431 mg Subst. (Schweinchen) gaben 7,70 mg CO₂ und 2,23 mg H₂O (S. W.)

C₄₆H₆₆O₁₈ (906,99) Ber. C 60,91 H 7,34 %
Gef. C 61,24 H 7,27 %

Dieses Azetat gab eine schwach rosa *Legal*-Reaktion. Mit 84proz. H₂SO₄ gab es eine gelbliche Lösung, die nach 30 Min. schwach rosa wurde. Seine alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei ca. 215 m μ und $\log \epsilon =$ ca. 4,19 (ber. auf Mol. Gew. 907).

Kristallisat B. Dieses in relativ größter Ausbeute erhaltene Produkt kristallisierte aus Azeton-Äther in farblosen Nadeln vom Smp. ca. 153–156°, wobei meist ein kleiner Rest sich erst bei ca. 170° verflüssigte. $[\alpha]_D^{16} = +5,70 \pm 20$ (c = 1,307 in Chloroform).

13,105 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,0740 \pm 0,020$

3,496 mg Subst. (Schweinchen) gaben 7,80 mg CO₂ und 2,28 mg H₂O (S. W.)

C₄₆H₆₆O₁₈ (906,99) Ber. C 60,91 H 7,34 %
Gef. C 60,89 H 7,29 %

Das Azetat gab eine dunkel rosa *Legal*-Reaktion. Mit 84proz. H₂SO₄ wurden die folgenden Färbungen erhalten: Gelb – gelborange (10 Min.) – orange (30 Min.) – bräunlich (1 Std.) – gelblich (2 Std.). Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive

Absorption mit einem Maximum bei ca. 216 $m\mu$ und $\log \varepsilon =$ ca. 4,12 (ber. auf Mol. Gew. = 907).

Kristallisat C. Mikroskopische farblose Nadelchen, Smp. ca. 150–158°, meist kleiner Rest bis 164°. $[\alpha]_D^{14} = +0,40 \pm 2^\circ$ ($c = 1,095$ in Chloroform). Färbung mit 84proz. H_2SO_4 wie Kristallisat B. Die Legal-Reaktion war dunkel weinrot.

Kristallisat D. Mikroskopische farblose Nadelchen, Smp. ca. 153–198°, manchmal bei 160° nur Sintern und Smp. 175–200°. $[\alpha]_D^{15} = +7,80 \pm 3^\circ$ ($c = 0,8582$ in Chloroform). Färbung mit 84proz. H_2SO_4 wie Kristallisat B, aber nach 2 Std. noch bräunlich. Die Legal-Reaktion war rot.

Danach dürfte es sich beim Kristallisat A am ehesten um das Azetat der Substanz 6 (Odorosid E) handeln. Kristallisat B leitet sich wahrscheinlich von einem isomeren Glykosid ab. Die Kristallisate C und D sind wahrscheinlich nicht ganz reine Azetate der Substanz 6.

Substanz 7 (Odorosid F)

Von dieser Substanz lagen nur ca. 80 mg Rohprodukt vor, das aber bereits ziemlich rein war. Aus Azeton-Äther farblose quadratische Plättchen mit Smp. 281–285° unter Umwandlung und Zersetzung. $[\alpha]_D^{17} = -24,50 \pm 4^\circ$ ($c = 0,5710$ in Methanol).

5,727 mg Subst. zu 1,00293 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,140 \pm 0,020$

Die Kristalle gaben beim Trocknen im Hochvakuum bei 100° praktisch keinen Gewichtsverlust.

3,604 mg Subst. gaben 8,14 mg CO_2 und 2,67 mg H_2O (F. W.)

3,169 mg Subst. gaben 1,208 mg AgJ (Zeisel) (F. W.)

$C_{36}H_{56}O_{13}$ (696,81)	Ber. C 62,05	H 8,10	$-OCH_3$ 4,45 %
	Gef. C 61,64	H 8,29	$-OCH_3$ 5,04 %

Dieser Stoff war ungefähr ebenso schwer löslich wie Subst. 5. Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei ca. 216 $m\mu$ und $\log \varepsilon =$ ca. 4,13 (ber. auf Mol. Gew. 696,81)²³. Die Substanz schmeckte schwach bitter. Die biologische Prüfung konnte nur an einer Katze ausgeführt werden und gab als letale Dosis 1,93 mg/kg. Danach ist dieser Stoff nur schwach wirksam.

Azetat

21 mg Odorosid F vom Smp. 281–285° in 0,4 cm^3 abs. Pyridin und 0,3 cm^3 Azetanhydrid 3 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 36 mg rohes Azetat. Aus Chloroform-Äther, Methanol-Äther und Azeton-Äther farblose, wollige Nadeln vom Smp. 283–285° (kleiner Rest bis 287°); $[\alpha]_D^{18} = -8,00 \pm 2^\circ$ ($c = 1,073$ in Chloroform).

10,759 mg Subst. zu 1,00293 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,0860 \pm 0,020$

3,866 mg Subst. gaben 8,593 mg CO_2 und 2,450 mg H_2O (OAB)

$C_{46}H_{66}O_{18}$ (906,99)	Ber. C 60,91	H 7,33 %
	Gef. C 60,66	H 7,09 %

Die Mischprobe mit Odorosid F schmolz bei 263–289°.

Azetat von Substanz 8

Das durch direkte Kristallisation erhaltene Azetat gab aus Azeton-Äther fast farblose, leicht gelbstichige Nadeln. Smp. 228–234°. $[\alpha]_D^{20} = -16,30 \pm 2^\circ$ ($c = 1,365$ in Chloroform).

13,772 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,223^\circ \pm 0,02^\circ$

Nach chromatographischer Reinigung wurden aus Azeton-Äther ganz farblose Nadeln erhalten. Smp. 229–231°, $[\alpha]_D^{19} = -19,4^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,5155$ in Chloroform).

5,203 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,10^\circ \pm 0,02^\circ$

3,988 mg Subst. (Schweinchen) gaben 8,503 mg CO₂ und 2,469 mg H₂O (ETH)

3,872 mg Subst. gaben 0,755 mg AgJ (Zeisel) (F. W.)

C₅₈H₈₂O₂₆ (1195,24) Ber. C 58,28 H 6,92 –OCH₃ 2,60 %

Gef. C 58,19 H 6,93 –OCH₃ 2,58 %

Das Azetat war in Äther schwer, in Chloroform, Azeton und Methanol gut löslich. Die alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei ca. 215,5 m μ und $\log \epsilon =$ ca. 4,05²³ (ber. auf Mol.-Gew. 1195,24).

Substanz 8 (Odorosid G)

0,510 g Substanz-8-azetat vom Smp. 228–230° wurden in 50 cm³ Methanol gelöst, mit der kalt bereiteten Lösung von 0,5 g KHCO₃ in 15 cm³ Wasser versetzt und die klare Mischung 8 Tage bei 20° stehen gelassen. Eine bis dann entstandene leichte Trübung wurde durch Filtration entfernt, das klare Filtrat im Vakuum bei 25° auf 15 cm³ eingengt und zehnmal mit je 25 cm³ Chloroform-Alkohol-Gemisch (2:1) energisch ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten der Reihe nach einen weiteren Scheidetrichter mit 10 cm³ Wasser, wo sie gewaschen wurden. Sie wurden dann über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der schaumige, farblose Rückstand (393 mg) war in Wasser und Methanol sehr leicht, in Azeton und in Chloroform wenig, in Äther unlöslich. Aus wasserfreien Lösungsmitteln konnten keine Kristalle erhalten werden. Nach Zusatz von Azeton zu einer konz. Methanol-Lösung entstand eine Fällung, die auf Zusatz einiger Tropfen Wasser sofort kristallisierte. Smp. bei 263° unter Zersetzung. Die Mutterlauge gab in gleicher Weise noch mehr Kristalle. Sie ließen sich aus methanolhaltigem Wasser durch Einengen umkristallisieren; Abnutschen, Waschen mit Azeton und Äther gab 30 mg. Schließlich zeigte es sich, daß das Glykosid aus 90prozentigem Isopropanol gut kristallisiert. Alle vereinigten Mutterlaugen konnten so weitgehend kristallisiert werden. Waschen mit reinem Isopropanol, Azeton und Äther gab farblose Körnchen, Smp. 265–266° (Zers.). Zur Drehung wurde bis zur Gew.-Konstanz getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = -20,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7074$ in Methanol).

7,095 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,142^\circ \pm 0,02^\circ$

3,798 mg Subst. 6 Std. bei 100° im Hochvakuum getrocknet gaben 0,116 mg Gewichtsverlust (F. W.)

3,682 mg Subst. (Schweinchen) gaben 7,91 mg CO₂ und 2,56 mg H₂O

3,730 mg Subst. 8 Std. bei 100° im Hochvakuum getrocknet gaben 0,140 mg Gewichtsverlust (ETH)

3,590 mg Subst. (Schweinchen) gaben 7,670 mg CO₂ und 2,541 mg H₂O

4,716 mg Subst. verbr. 1,529 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

C₄₂H₆₆O₁₈ · 1,5 H₂O (885,97) Ber. H₂O 3,05 %

C₄₂H₆₆O₁₈ · 2 H₂O (894,98) Ber. H₂O 4,03 %

Gef. H₂O 3,05; 3,76 %

C₄₂H₆₆O₁₈ (858,95) Ber. C 58,73 H 7,75 –OCH₃ 3,61 %

Gef. C 58,63 H 7,78 –OCH₃ 2,66 %

Gef. C 58,30 H 7,92 %

Das krist. Glykosid war in Wasser und Methanol relativ gut löslich, wenig löslich in Azeton, fast unlöslich in Chloroform und Äther. Das Glykosid schmeckte stark bitter. Die biologische Prüfung an 10 Katzen gab als geometrisches Mittel der letalen Dosis 0,6222 mg $\pm$ 0,0334 mg/kg. In Anbetracht der Tatsache, daß es sich wahrscheinlich um ein Triglykosid handelt, ist dieser Stoff relativ stark wirksam.

Die Mikroanalysen wurden in folgenden mikroanalytischen Laboratorien ausgeführt: Organ.-chem. Anstalt Basel (Leitung *E. Thommen*, *OAB*), bei Herrn *F. Weiser*, Basel (F. W.), im Organ.-chem. Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*, *ETH*), sowie bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberger*, Graz (S. W.).

Zusammenfassung der Ergebnisse

Aus der Stamm- und Astrinde von *Nerium odorum* Sol. wurden 8 kristallisierte, zur Hauptsache wahrscheinlich einheitliche Stoffe isoliert, von denen 7 zur Charakterisierung in kristallisierte Azetate übergeführt werden konnten. Daneben wurden noch etwa 4 Stoffe von zweifelhafter Reinheit isoliert, aber nicht weiter untersucht.

Von den 8 untersuchten Stoffen stellen die Substanzen 2 und 3 sicher, die Substanzen 4 bis 8 wahrscheinlich digitaloide Glykoside dar. Sie werden daher als Odoroside A - G bezeichnet.

Die Odoroside A und B gaben eine positive (blaue) *Keller-Kiliani*-Reaktion und erwiesen sich dementsprechend als Derivate eines 2-Desoxyzuckers. Ihre chemische Konstitution konnte abgeklärt werden, worüber in einer zweiten Mitteilung berichtet wird. Die zwei Stoffe sind isomer, stellen Monoglykoside dar und enthalten als Zuckerkomponente Diginose. Sie unterscheiden sich nur im Aglykanteil durch Raumisomerie an C-5. Odorosid A enthält das bekannte Digitoxigenin, Odorosid B das bisher unbekannte 5-Allodigitoxigenin, das mit dem hypothetischen Uzarigenin identisch sein dürfte.

Die Odoroside C - G geben bei der *Keller-Kiliani*-Reaktion keine Färbung und enthalten demnach wahrscheinlich keinen 2-Desoxyzucker. Sie enthalten aber ebenfalls alle eine Methoxylgruppe im Molekül und sind reicher an Sauerstoff als die Odoroside A und B. Vermutlich enthalten sie mehr als einen Zucker im Molekül.

Die von Dr. *K. K. Chen* bestimmte ungefähre letale Dosis der 7 Odoroside für die Katze wird angegeben.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

Curriculum vitae

Am 15. Juni 1912 wurde ich, Srinivasa Rangaswami, als Sohn des Srinivasa Iyengar und der Alamelu in Kalianapuram (Tanjore, Indien) geboren.

Nach dem Besuch der High School in Tiruvadi bestand ich die Maturität im Jahre 1927 und begann anschließend mit dem Studium am Bishop Heber College (Trichy), das ich am Presidency College (Madras) im Jahre 1932 mit dem Grad eines Bachelor of Arts (Honours) (Hauptfach: Chemie) abschloß. Hierauf betätigte ich mich während drei Jahren als Assistent am Presidency College (Madras), beim Lebensmittelchemiker des Gouvernements von Madras, und am Medical College (Vizag). Meine Dissertation über «Synthetic Experiments in the Benzopyrone Series» führte ich in den Jahren 1936 bis 1938 als Assistent von Herrn Professor Dr. T. R. Seshadri an der Andhra Universität (Waltair) aus. Dort erhielt ich 1939 den Grad eines Doktors der Philosophie (Ph.D) in Chemie. Nach weiterer Tätigkeit als Pharmazeutischer Assistent wurde ich an der gleichen Universität 1942 Lektor und 1944 Privatdozent (Reader) für Pharmazeutische Chemie. Seit Februar 1947 arbeitete ich an der Pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel unter der Leitung von Herrn Professor Dr. T. Reichstein an der vorliegenden Dissertation.

Im Verlaufe meiner Studien besuchte ich die Vorlesungen und Praktika folgender Herren Professoren und Dozenten: Smith, Dey, Raman, Nayak, Kini, Aiyar und Iyer in Madras, Seshadri in Waltair und Reichstein und Leupin in Basel.

